

CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS DE RECURSOS ACUÁTICOS DE LA OCTAVA REGION DEL BIOBIO, CHILE. CONTRIBUCION A LA CONSERVACION DE LA BIODIVERSIDAD

GENETIC CHARACTERIZATION OF AQUATIC ORGANISM FROM THE BIOBIO REGION, CHILE: A CONTRIBUTION TO ITS BIODIVERSITY CONSERVATION

Alay, F.*; H. Campos **; J. Gavilán*; F. González*; C. Valenzuela,*;
P.M. Bisol*** y J. Cabello*

RESUMEN

Se comunican los resultados de caracterizar genéticamente especies acuáticas marinas y dulceacuícolas del río Biobío y la Bahía de San Vicente de la Octava Región que están sometidas a influencia antrópica y/o la variabilidad natural del ecosistema. La estructura genética se examina mediante electroforesis de isoenzimas y estudios cromosómicos que incluyen descripción del cariotipo y test de micronúcleo (MN). El método electroforético se aplica a poblaciones de los siguientes moluscos: *Concholepas concholepas*, *Tagelus dombeyii* y *Chilina dombeyana* y a peces del Género *Genypterus maculatus*. El método cromosómico se aplica a la detección de clastogenicidad mediante el test de micronúcleo en peces autóctonos (4 especies) e introducidos (2 especies) del río Biobío. Este mismo método se aplica a la descripción del cariotipo de otras 2 especies autóctonas del mismo río Biobío. Los resultados de la electroforesis indican que la estructura genética poblacional de *Concholepas* y *Chilina* está sometida a stress ambiental, no así la de *Tagelus* y *Genypterus*. El test de MN revela co-relación entre su número y la contaminación acuática, lo que se ve confirmado por análisis de metales pesados en diversos tejidos de peces y moluscos. La descripción del cario-tipo de las 2 especies autóctonas examinadas no revela daño genético aparente.

PALABRAS CLAVES: Recursos genéticos. Biodiversidad. Test de micronúcleo. Isoenzimas. Contaminación.

ABSTRACT

The genetic characterization of aquatic organisms from the Biobío river and San Vicente Bay, exposed to pollution, or to natural environmental effects, is reported. Isozyme electrophoresis, cariotype description and micronucleus test are used to describe the genetic structure of organisms under study. Isozyme electrophoresis applied to *Concholepas concholepas*, *Tagelus dombeyii*, *Chilina dombeyana* (Mollusca. Gastropoda), and to *Genypterus maculatus* (Pisces. Ophidiformes), indicate that *Concholepas* and *Chilina* are under environmental stress, while *Tagelus* and *Genypterus* populations seem to be normal and in Hardy-Weinberg equilibrium. Micronucleus test applied to four native and two introduced fish species show clear correlations between levels of river contamination and number of micronuclei. The cariotype description of two native fish species reveals no genetic damage. The need to establish a permanent genetic monitoring of the aquatic biological resources of the Biobío Region of Chile, is discussed.

KEYWORDS: Genetic resources. Biodiversity. Micronucleus test. Isozymes. Pollution.

INTRODUCCION

Según la definición citada por FAO (FAO/UNEP, 1981), un recurso genético es: "toda característica heredable de una especie vegetal o animal que puede tener para la humanidad un valor actual o potencial de uso". Esta característica puede ser: la resistencia a enfermedades, el crecimiento rápido, la presencia o ausencia de

*Laboratorio de Genética, Depto. Biología Molecular Facultad de Ciencias Biológicas y Centro EULA-Chile, Universidad de Concepción, Chile.

**Laboratorio de Limnología, Universidad Austral de Chile

***Laboratorio de Genética, Universidad de Padua, Italia.

una sustancia química o cualquier otro factor de rendimiento o calidad.

La mantención de los recursos genéticos y de la biodiversidad constituyen en la actualidad una preocupación creciente (Meffe, 1986). Esta situación deriva, entre otras causas, del aumento de la actividad antrópica, la que muchas veces genera productos de desecho que pueden actuar sobre los organismos poniendo en peligro a una población o a una especie.

Gilpin y Soule (1986) estudian la variabilidad y adaptación de las poblaciones naturales no sólo frente a la contaminación antrópica sino que también frente a variaciones naturales del medio ambiente. Definen esta situación como un peligro que puede conducir a la extinción de las poblaciones en forma determinística o estocástica. La primera es muy rápida. La segunda es sutil y difícil de observar y definir.

Cuando se analizan estas formas de extinción en una población es necesario considerar en ella tres aspectos: el fenotipo (morfología, fisiología, distribución, etc.); la estructura etaria y la adaptabilidad. Esta última incluye la medición de la variabilidad como un parámetro importante para cuantificar el tamaño genético efectivo de la población.

Por otra parte la mutación inducida es un riesgo potencial para la estabilidad de los recursos genéticos de la población. Pueden ser inducidas por factores derivados de la actividad humana. Se ha demostrado que sustancias químicas (metales pesados, pesticidas, herbicidas, etc.), radiaciones, productos industriales (edulcorantes, solventes, fungicidas), factores físicos, productos de la industria farmacéutica, etc., son capaces de alterar la estructura del DNA generando mutaciones con resultados desconocidos para las especies (Nelson y Roule, 1987).

Las mutaciones así generadas pueden ser beneficiosas, subletales o letales, lo que puede traducirse en alteración de la estructura genética poblacional, disrupción del equilibrio de Hardy-Weinberg y/o cambio en los procesos evolutivos. Esto a su vez puede provocar cambios bruscos de la diversidad e incluso extinción de las especies. La Universidad de Concepción hizo un estudio muy completo de la Cuenca Hidrográfica del Río Biobío, logrando reunir gran parte de la información fenotípica y ambiental que caracteriza el hábitat de las numerosas especies que habitan esta cuenca (Faranda y Parra, 1993).

Este importante sistema hidrográfico ha sido estudiado ampliamente desde el punto de vista de su hidrología, sedimentología, morfología, biología y de la calidad de sus aguas (Weinert, 1988). Estudios que incluyeron además el área marina adyacente (Díaz 1992). Tanto el río Biobío como el área marina costera están sufriendo los efectos de la acción antrópica, que se caracteriza por contaminación y sobreexplotación de los recursos naturales, lo que pone en peligro la biodiversidad y sus recursos genéticos (Alay y col. 1992, Alay 1989).

El río Biobío se caracteriza porque desde su origen en las lagunas Galletué e Icalma hasta el Puente Callaqui (Fig. 2) tiene aguas de excelente calidad. A partir de éste, la presencia de ciudades e industrias determinan contaminación que se hace máxima en la Desembocadura (Tabla XI). Parra (1992) clasifica a las primeras como de calidad A, aptas para todo uso y a las últimas como de calidad E, no aptas.

La abundante información reunida (Faranda y col., 1993) caracteriza bastante bien la condición ambiental de la zona. Desgraciadamente, muy poco o nada se sabe respecto a la estructura genética de las diversas especies que la habitan y menos aún de la interacción genotipo ambiente que como se mencionó anteriormente puede provocar desaparición determinística o estocástica de las poblaciones. Si a lo anterior agregamos la mutación inducida por acción antrópica aparece además un riesgo evolutivo.

Todo lo anterior determina la urgente necesidad de realizar programas de vigilancia genética que permitan detectar el grado de equilibrio o desequilibrio en que la población se encuentra y desarrollar las acciones necesarias para preservar la variabilidad.

Aspecto importante en un Programa de esta naturaleza es la elección de las especies a ser monitoreadas. El criterio puede ser múltiple, pero es condición muy importante que ocupen niveles superiores en la cadena trófica, lo que facilita la observación del efecto de concentración de contaminantes y por otra parte que las especies elegidas tengan escasa movilidad, lo que las hace especialmente adecuadas como marcadoras de áreas restringidas que pudieran estar contaminadas. Estos criterios primaron en la elección de las especies seleccionadas para este estudio.

El presente trabajo tiene por objeto entregar la información reunida hasta el momento, respec-

to a la caracterización de los recursos genéticos de las siguientes especies marinas de la Región del Biobío: *Concholepas concholepas*, *Tagelus dombeyii*, *Genypterus maculatus*. Como especies dulceacuícolas *Oncorhynchus mykiss*, *Salmo trutta*, *Basilichthys australis*, *Percichthys trucha*, *Percichthys melanops*, *Cauque mauleanum*, *Cheirodon galusdae* y *Chilina dombeyana*.

MATERIALES Y METODOS

Las diversas especies estudiadas fueron analizadas mediante los métodos electroforéticos y cromosómicos. En general se comparó la situación de cada especie en condiciones normales y en condiciones alteradas, ya sea latitudinal o longitudinalmente.

a) METODO ELECTROFORETICO:

Permite evidenciar aloenzimas. Mediante conteo de los alelos es posible describir cuantitativamente la estructura de la población.

Las muestras de las diversas especies estudiadas fueron sometidas a análisis electroforético en geles de almidón para analizar la expresión de sus diversos alelos (Harris y Hopkinson 1977). Todos los individuos fueron adultos para asegurar una expresión génica uniforme.

Correspondieron a las siguientes especies: *Genypterus maculatus*, *Concholepas concholepas*, *Chilina dombeyana* y *Tagelus dombeyii*. Los lugares de muestreo se indican en la Fig. 1.

PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Los ejemplares de moluscos, cuidadosamente lavados, fueron extraídos de su concha. Se utilizaron los siguientes tejidos músculo de pie y hepatopáncreas de *Concholepas concholepas*; músculo de pie de *Tagelus dombeyii*; músculo rojo e hígado de *Genypterus maculatus*. *Chilina dombeyana* fue macerada in toto.

Dependiendo del tamaño de la muestra se agregó 300-400 µl de tampón de extracción (ver Anexo) y mediante centrifugación por 8-10 min. (centrífuga Eppendorf de mesón) se obtuvo un sobrenadante limpio.

Cuando fue necesario las muestras se conservaron en Nitrógeno líquido.

PREPARACION DEL SOPORTE

Gel de almidón al 12 % p/v

En cada caso se utilizó soluciones tampón adecuadas a cada especie (ver Anexo).

CONDICIONES DE ANALISIS.

Fuente de Poder Heathkit (Heath Company)

700 ml de Tampón electrodo.

Muestra absorbida en papel filtro Whatman 3 (6x5mm),

18-20 muestras por gel.

El voltaje utilizado no sobrepasó los 250 Volts. La corrida se suspendió según lo indicado por el azul de bromofenol, usado como indicador.

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS

Todos los datos obtenidos en las diversas especies fueron analizados mediante el programa Biosys-1 (Swoford y Selander, 1989).

-*Concholepas concholepas*:

Se examinaron 150 muestras provenientes de Mehuín (X Región), Quintay (V Región) y Caleta Ramuntcho en la Bahía de San Vicente (VIII Región) (Fig. 1). Los tamaños medios de los ejemplares fluctuaron entre 7.18 y 9.53 cm (Tabla I).

En esta especie se analizaron los siguientes sistemas enzimáticos: Esterasa (ES), Fosfoglucomutasa (PGM), Leucino amino peptidasa (LAP), Aspartato amino transferasa (AAT), 6 Fosfogluconato deshidrogenasa (6PGDH), Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PDH), Enzima málica (ME), Octopino deshidrogenasa (ODH), Xantino deshidrogenasa (XDH), Fosfatasa alcalina (ALP), Isocitrato deshidrogenasa (IDH), alpha-glicerol fosfato deshidrogenasa (alpha GPDH), Malato deshidrogenasa (MDH), (Pasteur *et al.* 1988).

-*Tagelus dombeyii*

Se analizaron 87 individuos, provenientes de Puerto Montt (40) y de la Bahía de San Vicente (47) (Fig. 1), cuyos pesos y medidas aparecen en la Tabla V.

Se analizaron los sistemas enzimáticos mencionados anteriormente, excepto glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PDH) y enzima málica (MDH). Se agregó, sin embargo, la enzima Glutamato oxalato transaminasa (GOT).

-Genypterus maculatus.

Se recolectaron 98 ejemplares adultos de *Genypterus maculatus* mediante embarcaciones artesanales frente a la Bahía Concepción (36° 40' S, 73° 02' W) (Fig. 1), durante un período de 17 meses (julio de 1989 a noviembre de 1990). Los muestreos se hicieron durante la época de ocurrencia de eventos de surgencia: 4 muestreos entre los meses de octubre y noviembre de años sucesivos, con un total de 56 ejemplares. En la época de no surgencia 3 muestreos en los meses de julio, agosto y abril con un total de 39 ejemplares. Sin embargo, para el análisis genético se descartó el mes de julio, puesto que fue un muestreo con sólo tres individuos, lo que determinó que en último término se analizaran 10 sistemas isoenzimáticos en 95 individuos.

Los ejemplares de *Genypterus maculatus* fueron pesados y medidos. Las tallas oscilaron entre 42 y 95 cm; el peso entre 500 y 3000 g.

Se analizaron los mismos sistemas enzimáticos que en *Concholepas* excepto Leucino amino peptidasa (LAP), Aspartato amino transferasa (AAT), Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PDH) y Octopino deshidrogenasa. Se agregaron los siguientes nuevos sistemas: Sorbitol deshidrogenasa (SOD), Lactato deshidrogenasa (LDH) y Fosfoglucosa isomerasa (PGI).

-Chilina dombeyana

Es un gastrópodo pulmonado de agua dulce (Valdovinos, 1987 y Stuardo 1961), en el que se estudiaron 85 ejemplares adultos provenientes del río Biobío. De éstos, 42 fueron extraídos desde el sector del Puente Callaqui cercano a la ciudad de Santa Bárbara, con aguas que tienen calidad A. Los cuarenta y tres restantes provinieron de la desembocadura. Esta área del río tiene aguas de calidad E (Parra 1993), las que además son salobres por su mezcla con el mar debido al ciclo regular de mareas (Fig. 2).

En esta especie se examinaron los sistemas enzimáticos mencionados para *Concholepas* excepto: Aspartato amino transferasa (AAT), 6 fosfoglucosa deshidrogenasa (6PGDH), Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PDH), Enzima málica

(EM), xantino deshidrogenasa (XDH) y Malato deshidrogenasa (MDH). A esto es necesario agregar los siguientes: Fosfoglucosa isomerasa (PGI), Glutámico oxalacético transaminasa (GOT), Adenilato quinasa (AK), Tetrazolio oxidasa (TO).

b) METODO CROMOSOMICO:

Lo dividimos en dos aspectos:

b.1. Test de Micronúcleo

Permite evidenciar rupturas cromosómicas que se ven como fragmentos acéntricos en el citoplasma. Existe una relación directa entre el número de fragmentos y la intensidad del agente inductor (compuestos químicos o agentes físicos). La observación se realizó en las siguientes especies en las que el número de individuos capturados mediante redes monofilamentos se indica entre paréntesis: *Onchorhynchus mykiss* (19), *Salmo trutta* (12), *Basilichthys australis* (33), *Percichthys trucha* (24), *Percichthys melanops* (15) y *Cauque mauleanum* (5). Todos los individuos examinados eran adultos. El diagnóstico de estas especies se hizo de acuerdo a lo indicado por Arratia *et al.* (1981) y por Campos (1985).

Los frotis se hicieron en terreno de acuerdo a lo indicado por Schmid (1975) y Hooftman y Raat (1982).

La sangre se extrajo por punción cardíaca mediante micropipeta impregnada en citrato de sodio (2.5 %). Los frotis se secaron al aire y se fijaron en metanol absoluto. En el Laboratorio se tiñen con Giemsa al 4 % en tampón fosfato pH 6.7; se lavan con agua destilada y se dejan secar al aire.

El conteo de los micronúcleos se hace según lo indicado por Racine y Matter (1984). Se cuentan 2000 células por portaobjeto, examinando dos por cada ejemplar con un total de 270.563 eritrocitos contados en 108 especímenes. La observación se hizo en un microscopio C. Zeiss Standard R.A. con 1000x de aumento. Los portaobjetos fueron numerados y los conteos se hicieron "a ciegas".

b.2. Descripción del cariotipo.

Para la descripción del cariotipo de *Percichthys trucha* y *Cheirodon galusdae* se utilizó la técnica de Chourrout y Happe (1986). Los pe-

ces fueron anestesiados en alcohol isoamílico al 0.5 % e inyectados con una solución de colchicina (0.7 % en NaCl 0.8 %) i.m. en una dosis de 6 ml/Kg de peso, con un tiempo de tratamiento de 5 horas. Fueron sacrificados por dislocación cervical. Las muestras de riñón fueron sometidas a un shock hipotónico en solución de citrato trisódico 0.9 %, durante 20 minutos y fijadas en Carnoy, con dos cambios de fijador de 30 minutos cada uno.

Previamente a la tinción se disocia con tijera un trozo de tejido en un portaobjeto excavado; se agregan 2-3 gotas de ácido acético 50 % y con una pipeta Pasteur se gotea la suspensión en portaobjetos limpios, los que son teñidos en una solución filtrada de Giemsa 10 % pH 6.7 (Tampón fosfato) por 30 minutos y secadas al aire.

RESULTADOS

a) MÉTODO ELECTROFORÉTICO

-Concholepas concholepas

En la Tabla I se señala el número de individuos y sus tamaños.

Las enzimas LAP, ES y PGM resultaron polimórficas con 2, 3 y 2 alelos respectivamente (Tabla II). La frecuencia génica de las enzimas polimórficas en las tres localidades muestreadas se indica en la Tabla III.

Finalmente, en la Tabla IV se indica la heterocigosidad promedio.

-Tagelus dombeyii

En la Tabla V se señala los tamaños promedios de los individuos adultos provenientes de San Vicente y Puerto Montt.

De los 12 sistemas enzimáticos analizados, resultaron polimórficos PGM, con 4 alelos, IDH con dos alelos LAP y GOT con 3 alelos cada uno. La Tabla VI muestra las frecuencias alélicas y la heterocigosidad de ambas poblaciones; no hay diferencias significativas entre ellas. Esto se ve corroborado en la Tabla VII, mediante un análisis de contingencia.

-Genypterus maculatus

De los 10 sistemas enzimáticos analizados (Tabla VIII) resultaron polimórficos EST-2, EST-3, PGI-2, ME-1, PGM-1, alpha GPDH-1 y SDH-1 para el criterio de $P \leq 0.95$. LDH-1 resultó

ser polimórfico para el criterio $P \leq 0.99$.

Las frecuencias alélicas analizadas en los períodos de surgencia y no surgencia (Tabla IX) no revelan diferencias notables entre ambos períodos. La heterocigosidad media observada y esperada confirma la observación anterior (Tabla X).

-Chilina dombeyana

Los datos obtenidos para los 85 individuos analizados (42 y 43 respectivamente para cada una de las estaciones de muestreo estudiadas) evidencian variabilidad para 3 de los 17 loci estudiados: GOT-1, EST-3 y LAP-2; este último es el único claramente interpretable ya que GOT-1 reveló ocasionalmente la existencia de heterocigotos claramente diferenciables: la mayoría de las veces éstos aparecían como formados por una banda más gruesa y difusa. EST-3 a semejanza de GOT-1 también ocasionalmente reveló la presencia de 3 heterocigotos para 3 alelos. La mayoría de las veces aparecieron como una banda difusa y más gruesa que los homocigotos.

Debido a la poca seguridad en la interpretación de estos zimograma y al resultado negativo obtenido al ensayar diversas variaciones en el método electroforético, se decidió no incluirlos en el análisis genético.

Al analizar mediante una tabla de contingencia, el comportamiento de los alelos de LAP-2 en las dos localidades (Tabla XII) se revela fijación del alelo A en la desembocadura. En esta misma Tabla se indican las frecuencias de los diversos alelos de LAP-2 en ambas localidades (Tabla XII). Respecto a las frecuencias alélicas de GOT-1 y EST-3 no es posible determinarlas por las razones que arriba se señalan.

b) MÉTODO CROMOSÓMICO

b.1. Test de Micronúcleo

Los resultados del análisis de metales pesados en sedimentos del sector medio del río (Nacimiento) y en diversos tejidos de peces nativos e introducidos se ilustran en las Tablas XIV y XV respectivamente. Ambas revelan la presencia en concentraciones variables de metales pesados, lo que confirma la clasificación de diversas calidades de agua hecha por Parra (1992). La incidencia de eritrocitos micronucleados está correlacionada directamente con estos hallazgos en las zonas altas, media y baja del río, lo que se observa en la Tabla XIII.

b.2. Cariotipo

El número cromosómico diploide modal $2n=50$, para *Cheirodon galusdae* y $2n=44$ para *Percichthys trucha* así como peso, longitud y sexo de los 12 ejemplares analizados se indican en las Tablas XVI y XVII. Las morfologías cromosómicas se pueden ver en las Figuras 4 y 5 respectivamente.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

a) MÉTODO ELECTROFORÉTICO

Concholepas concholepas

De los resultados mencionados anteriormente podemos deducir que las localidades de Quintay y Mehuín, situadas a 500 Km al Norte y 500 Km al Sur de Ramuncho, respectivamente, tienen seguramente la misma estructura genética dada la semejanza de frecuencias génicas para los tres sistemas polimórficos estudiados (Tabla III), lo que estaría indicando flujo génico entre ambas poblaciones (Lucotte, 1983).

La bahía de Ramuncho ubicada entre las 2 bahías anteriores, si bien es semejante, presenta ligeras diferencias para 2 de los 3 sistemas enzimáticos muestreados. ES y PGM tienen frecuencias distintas a las que se observan en Quintay y Mehuín (Tabla III). Esta situación es aparentemente contradictoria con la dispersión natural de la especie, en que sus larvas Veliger deberían ser transportadas de Sur a Norte por la corriente de Humboldt, colonizando de manera uniforme las 3 bahías.

Sin embargo, desde el punto de vista de la heterocigosidad observada (Ho) y esperada (He) no existen diferencias. La Tabla IV señala a Ramuncho como no significativamente distinta de las otras.

Tampoco el tercer sistema enzimático estudiado (LAP) presenta diferencias en las 3 poblaciones, lo que parece confirmar que Ramuncho forma un continuo con las 2 poblaciones anteriores.

Es importante, sin embargo, hacerse la pregunta de cuál podría ser la causa de las diferencias en las frecuencias génicas que Ramuncho tiene para los sistemas ES y PGM.

El aislamiento reproductivo, es decir, la existencia de algún tipo de barrera geográfica que impidiera la entrada y salida de larvas Veliger de la Bahía de San Vicente, en la que se ubica Ramuncho, no explica esta situación por las siguientes razones:

La información existente sobre hidrología, tiempo de residencia de las aguas, surgencias, etc. (Ahumada 1989, Brito 1992) aseguraría la circulación y la entrada a la Bahía de larvas Veliger provenientes de otros lugares.

También se descarta la hipótesis de aislamiento geográfico y reproductivo, por la semejanza existente entre Quintay, Ramuncho y Mehuín para los alelos del sistema LAP. Este último hecho está indicando la existencia de flujo génico entre las tres localidades, lo que es coincidente con lo informado por Carrasco y Gallardo (1992).

La diferencia observada la atribuimos a un fenómeno selectivo que podría estar afectando los sistemas enzimáticos ES y PGM. Este fenómeno puede ser consecuencia de la intensa pesca a que es sometido el recurso, lo que puede generar un fenómeno de deriva genética, o a la contaminación que tiene la Bahía de San Vicente. Antecedentes aportados por Brito (1992), y Díaz (1992) indican que: "la Bahía de San Vicente muestra un alto grado de contaminación debido a desechos descargados en su interior por la industria petroquímica con efluentes líquidos de 12 mil $m^3/día$ que aportan 1095 Kg de mercurio al año, cloro activo entre 0.1 y 3 ppm, cloruros entre 100 y 2000 ppm; también son vertidos en forma aislada o conjunta: ácido clorhídrico, hipoclorito de sodio y soda caústica.

Por otra parte está el aporte de la planta de polietileno con efluentes líquidos de 26 mil $m^3/día$, los que contienen cloruros en concentraciones entre 50 y 2000 ppm, aceites lubricantes (1.5 ton métricas/mes), ácido clorhídrico e hidrocarburos clorados.

Por su parte la industria siderúrgica, próxima a la Bahía de Ramuncho, vierte efluentes líquidos en cantidades de 112 mil $m^3/día$ con contenidos de hierro, compuestos amoniacales, fenoles y ácido clorhídrico. A lo anterior se suman 3 mil $m^3/día$ de aguas servidas, 1500 $m^3/día$ de agua de cola y 50 $m^3/día$ de sangre provenientes de diversas plantas pesqueras".

Queda, sin embargo, por establecer la concentración que estos diversos compuestos tienen

en el agua, sedimentos y en los tejidos de los organismos de esta especie que viven en la Bahía de San Vicente. Una mejor aproximación al problema se tendrá cuando se analicen los resultados de muestrear otros sectores y edades, así como análisis químico de los tejidos, en las poblaciones de *Concholepas* de la costa de la Octava Región. Esta información permitirá tener mayor seguridad respecto al posible efecto que pudieran tener sobre la estructura genética de esta especie.

En todo caso situaciones como las que describimos para *Concholepas* son semejantes a los numerosos casos que Battaglia y Bisol (1988), Nevo y col. (1983), Rasmuson (1981) describen para diversos tipos de organismos marinos que habitan zonas de intensa actividad humana.

Tagelus dombeyii

De los sistemas analizados solamente fueron polimórficos: PGM, IDH, LAP y GOT. Todos los sistemas presentaron un locus excepto IDH que presentó dos. La Tabla VI muestra las frecuencias génicas y la heterocigosidad de cada población. En la Tabla VII aparecen los resultados de comparar las poblaciones de Pto. Montt y San Vicente para todos los loci: $P=0.48$, indica la existencia de grupos estadísticamente no diferentes, lo que está indicando que ambas poblaciones se encuentran en equilibrio de Hardy Weinberg lo que a su vez parece indicar flujo génico entre ambas.

En líneas generales podemos deducir que esta especie, a semejanza de *Concholepas*, también tiene un amplio rango de dispersión mediante su fase larval natatoria, que se explica por la frecuencia génica semejante en las 2 poblaciones. Al parecer y a diferencia de *Concholepas*, tampoco ha sido extraída masivamente ni sufrido los efectos de la contaminación de la Bahía de San Vicente (Meffe, 1986) dado que se encuentran en equilibrio de Hardy Weinberg.

Genypterus maculatus

El polimorfismo calculado para los 18 loci es de 0.44 (Alay y col 1993), lo que coincide parcialmente con los entregados por Oyarzún y col. (1991).

Brulé (1989) obtiene valores semejantes para *Pleuronectes platessa*, pez bentodemersal frecuente en la costa Noreste de Bretaña. Empleando 13 sistemas enzimáticos con 21 loci, encuentra un polimorfismo de 0.47.

La heterocigosidad promedio fluctúa débilmente a lo largo del año excepto en el mes de noviembre donde se observa un descenso de heterocigotos (Tablas IX y X), fluctuaciones que parecieran estar asociadas a los fenómenos de surgencia y no surgencia costeras. Sin embargo el análisis de los grupos muestreados mensualmente revela flujo génico abierto, con un valor de F_{st} de 0.068. La distancia génica es menor de 0.09 y la identidad génica oscila entre 0.91 y 0.99 entre los distintos grupos mensuales analizados, lo que corrobora la existencia de un solo grupo poblacional (Alay *et al.*, 1993).

Finalmente podemos decir que la población de *Genypterus maculatus* capturados (Tabla X) frente a la Bahía de Concepción, se encuentra en equilibrio de Hardy Weinberg, lo que parece asegurar la estabilidad del recurso.

Chilina dombeyana

Los datos obtenidos indican polimorfismo en los sistemas enzimáticos GOT-1, EST-3 y LAP-2. Estos resultados revelan una neta diferenciación entre las 2 poblaciones (Tabla XII). En la Desembocadura prevalece al alelo LAP A (con una frecuencia alélica de 0.95), en cambio la población del Puente Callaqui presenta 6 alelos, siendo el más frecuente el alelo LAP D (con una frecuencia alélica de 0.65). Estos datos influyen sobre el nivel de polimorfismo, sobre el índice de semejanza genética y de distancia genética (Tabla XII).

Debido a que no podemos excluir que esta distribución alélica esté influenciada por el fenómeno de deriva genética dependiente de la fragmentación y aislamiento en una población de organismos con escasa movilidad, el elevado número de alelos y de heterocigotos observados en la muestra de Callaqui reduce el rol del hermafroditismo en la pérdida de variabilidad genética y sugiere una interpretación adaptativa, que podría ser atribuida entre otras causas a un fenómeno de adaptación a la calidad E de las aguas y/o a la diversa concentración salina que es dable esperar entre estas 2 zonas.

Esta última hipótesis es coincidente con los datos de la literatura que atribuyen a la enzima LAP una función reguladora de la concentración aminoacídica. (Nevo *et al.*, 1983). Escindiendo los enlaces peptídicos libera aminoácidos y condiciona el proceso de osmorregulación al variar las condiciones de salinidad del medio (Koehn *et*

al., 1980 y Battaglia y Bisol, 1988). Para completar este estudio y descartar con seguridad la hipótesis de aislamiento reproductivo es necesario muestrear el área de Nacimiento, localidad intermedia entre Callaqui y la Desembocadura. La presencia o ausencia de un "cline" de frecuencias alélicas aceptaría o rechazaría la hipótesis.

Es importante destacar que *Chilina dombeyana* ofrece un interesante caso de estudio a seguir en el tiempo, ya que la población de la Desembocadura pareciera ser una raza geográfica, primera etapa en la diferenciación específica, hecho que necesita ser confirmado.

B) MÉTODOS CROMOSÓMICOS

b.1. Test de micronúcleos

De acuerdo a los resultados obtenidos, todas las especies analizadas muestran una tendencia al aumento en la frecuencia de eritrocitos con MN a medida que se desciende de las zonas de aguas no contaminadas de clase A, ubicadas en la parte alta del río, a las zonas contaminadas con aguas de clase E, situadas en la parte baja del mismo (Tabla XIII y Fig. 4).

Del análisis de la información de la Tabla XIII y de la Fig. 3 podemos deducir lo siguiente:

Las dos especies introducidas en el río Biobío, *S. trutta* y *O. mykiss*, presentan diferencias. La primera aparece como más sensible ya que los niveles de MN encontrados en los muestreos de la parte media del río son del orden de 1.25 ‰, en cambio para *O. mykiss* son de 0.32 ‰.

Entre las especies nativas, *P. trucha* resulta más sensible que *B. australis*. Sus valores para los 2 sectores inferiores del río son 2.42 ‰, y 5.88 ‰. En cambio *B. australis* presenta 1.58 ‰ y 5.48 ‰, respectivamente.

Por otra parte, si observamos en conjunto el comportamiento de las diversas especies en la región media del río, *P. melanops* aparece como la más sensible con una media de 2.76 ‰ de MN, si la comparamos con *O. mykiss* (0.32 ‰), *S. trutta* (1.25 ‰), *B. australis* (1.58 ‰) *P. trucha* (2.42 ‰) y *C. mauleanum* (1.29 ‰).

De lo anterior se puede concluir que *P. trucha* y *B. australis*, en este orden, son las especies más adecuadas para estudiar la relación contaminación-cambio genético: si bien no son tan sensibles como *P. melanops*, tienen un grado de sensibilidad mayor que las 2 especies introducidas y que *C. mauleanum*.

Por otra parte su distribución en las regiones

alta, media y baja del río las convierte en mejores especies indicadores que *P. melanops*, que si bien es muy sensible sólo se encuentra en abundancia en la parte media del río. Tal vez esta última, por su mayor sensibilidad, sería adecuada para su empleo en ensayos experimentales.

En general los peces se utilizan como buenos indicadores de la calidad del agua. El aumento de la frecuencia respiratoria, los porcentajes de mortalidad inducidos, las lesiones patológicas que presentan, etc., revelan el grado en que el agua puede estar contaminada (Billard 1991). También hay abundante información de su uso como indicadores de genotoxicidad (Billard 1991, Guyomard 1989, Billard y Marcel 1986).

En relación a genotoxicidad, se puede decir que para que se generen MN en los peces que se encuentran en las condiciones naturales del río Biobío, son necesarios dos factores: por una parte un agente clastogénico y por la otra un tratamiento crónico. Ambas condiciones se dan en las proximidades de la Desembocadura del río (Parra 1993).

Se ha detectado la presencia de agentes clastogénicos como Hg, Cd, fenoles, etc. (Parra 1992), los que aisladamente o en conjunto pueden inducir fracturas cromosómicas (Tabla XI).

Respecto al tratamiento crónico pareciera que la movilidad de los peces fuera atentatoria contra esta forma de tratamiento. Sin embargo, si estos desplazamientos se producen, los peces deben volver pasado un tiempo a los mismos lugares originales, ya sea por necesidades tróficas, etológicas, reproductivas y/o estacionales. Por otra parte, de los muestreos realizados se deduce que hay especies que se encuentran preferentemente en un sector y no en otro.

Todo esto parece indicar que en algunos sectores del río Biobío los peces están siendo sometidos a un tratamiento clastogénico crónico. Los análisis de metales pesados, fenoles y pesticidas realizados en sedimento (Tabla XIV) y en muestras de hígado y grasa de estas especies (Tabla XV) así lo indican.

Finalmente, el aumento en la incidencia de eritrocitos con MN en los peces examinados parece estar relacionado con los mayores niveles de contaminación del río.

b.2. Descripción del cariotipo

En el presente trabajo se incluye el cariotipo de 2 peces: *Cheirodon galusdae* y *Percichthys*

trucha. En general nuestro país y la Región del Biobío contrastan con el resto de la ictiofauna Americana por su bajo número de especies (36) y por un marcado endemismo y primitividad (Campos 1985). Por otra parte la ictiofauna es poco conocida y desde el punto de vista de la estructura cariotípica sólo se han estudiado las de *Basilichthys* y *Galaxidos* (Campos 1972 y 1985).

El número diploide obtenido para *Ch. galusdae* es el predominante para la Familia Characidae con un número constante de $2n = 50-52$ (Fig. 4 y Tabla XVI). En los Perciformes el número predominante es $2n = 48$ con todos sus cromosomas acrocéntricos (Kirpichnikov, 1981)

El cariotipo $2n = 48$, $NF = 96$ es actualmente visto como cariotipo ancestral para más del 90 % de los teleosteos (Kirpichnikov, 1981). Sobre esta base, el cariotipo de *Ch. galusdae* ha debido incluir por lo menos inversiones pericéntricas y fusiones robertsonianas.

El cariotipo de *P. trucha* es primitivo y formado solamente por elementos acro-telocéntricos siendo su fórmula $2n = 44$ (Fig. 5 y Tabla XVII).

En todos los ejemplares analizados de ambas especies, se evidenciaron anomalías cromosómicas visibles al microscopio óptico. Es importante continuar con muestreos cariotípicos periódicos, que permitan detectar cambios y/o anomalías aneuploides, poliploides, clastogénicas, indicadoras del estado genético de la especie.

A semejanza de lo establecido por otros autores (Bruce, 1984, Thorpe et al. 1981, Wolhfarth 1986, Battaglia y Bisol 1988, Nevo et al., 1983) los resultados obtenidos en este estudio están indicando la existencia de una clara relación entre la estructura genética de las poblaciones estudiadas y el cambio del ambiente producido por acción antrópica o por fluctuaciones naturales del mismo.

Los resultados obtenidos en el río Biobío para los peces examinados mediante el test de micronúcleo revelan correlación entre clastogenicidad y contaminación antrópica, situación que pareciera confirmarse con la presencia de contaminantes en los tejidos de peces sometidos a análisis químicos (Tabla XV).

Una situación semejante se observa para una de las poblaciones de *Chilina dombeyana* que estaría respondiendo a una adaptación a condiciones de salinidades distintas en la Desembocadura del río, situación que se hace evidente por la fija-

ción de uno de los alelos del sistema LAP.

En cuanto al área costera marina adyacente, los resultados obtenidos para *Genypterus maculatus* en la bahía de Concepción indican que esta población se encuentra en equilibrio de Hardy Weinberg. Por lo tanto los niveles de pesca que efectúan principalmente pescadores artesanales parecieran no haber alterado la estructura genética del recurso (Ryman y Otter 1981). Esto se hace extensivo a las poblaciones de *T. dombeyii* en las Bahías de San Vicente y Puerto Montt.

No ocurre lo mismo para la población de *Concholepas concholepas* en la Bahía de San Vicente. Se ha detectado una situación de ausencia de equilibrio de H. Weinberg para 2 de los 18 sistemas isoenzimáticos estudiados; lo cual es atribuible al nivel de acción antrópica que se ejerce sobre la Bahía. Esta alternativa es necesaria confirmarla.

La estructura genética poblacional de *T. dombeyii*, aparentemente no está afectada por estos factores.

Finalmente es posible concluir que:

1. Es necesario desarrollar una política que permita obtener recursos que hagan factible el monitoreo periódico de la cuenca y de sus recursos genéticos, para preservar en la mejor forma posible su estado natural. Hacer extensivo este monitoreo a áreas suficientemente amplias a objeto de impedir la reducción en el número de subpoblaciones o las extinciones locales o los estrés severos.

Es necesario tener en cuenta que no sólo la alteración del ambiente o la presión de extracción alteran los ecosistemas sino que también la construcción de sistemas que impiden el libre curso de los ríos como represas hidroeléctricas que a menudo interfieren directamente con la vida animal. Así ocurre por ejemplo con los peces y sus migraciones de desove. A veces en algunos stocks las condiciones de tolerancia a determinadas características del agua son muy estrechas y las alteraciones en el pH, T°, flujo, salinidad, turbidez, etc., que provoca por ejemplo una represa, son determinantes para la extinción de especies de peces (Bruce 1984).

2. Es necesario identificar los recursos genéticos. Es decir, reunir datos sobre la diversidad de las poblaciones existentes en la Región en sus diversos sectores, con el objeto de establecer el grado de diferenciación entre las mismas (Stocks

Symposium 1981). Estos datos deben incluir no sólo los caracteres genéticos, sino que también la información relacionada con datos morfológicos, fisiológicos y cromosómicos.

La identificación de los recursos genéticos permitirá conocer la variabilidad genética, lo que a su vez hace posible desarrollar esfuerzos para conservar las formas genéticas más divergentes y variables, ya que ellas proveerán el material genético necesario para un mejor manejo de nuestros recursos.

3. Finalmente es necesario educar y mantener intercambio de información no sólo con la comunidad para que tome conciencia de la necesidad de defender el ecosistema, sino que con los responsables del manejo y mantención de las especies naturales de la zona.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado con fondos provenientes del Proyecto FONDECYT 0200-92, del Proyecto 203122 de la Dirección de Investigación de la Universidad de Concepción y del Proyecto 13.2 del Centro EULA-Chile. A estas organizaciones agradecemos su importante ayuda. También agradecemos a la Sra. Ruth Chávez por su permanente ayuda dactilográfica. Finalmente se agradecen las sugerencias de los revisores anónimos.

BIBLIOGRAFIA

- AHUMADA, RAMON. 1989. Producción y destino de la biomasa fitoplanctónica en un sistema de bahías en Chile Central: una hipótesis. *Biología Pesquera* 18: 53-66.
- ALAY, F. 1989. Conservación de los recursos genéticos en Genética y Recursos Renovables. pp:16-26 Ed. F. Alay. Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales. Universidad de Concepción. pp 200.
- ALAY F.; J.F. GAVILAN; F. GONZALEZ & H. CAMPOS. 1992. La conservación de los recursos genéticos en la Octava Región. *Ecotecnos* N° 1: 38-40.
- ALAY F.; F. GONZALEZ & CABELLO J. 1993. Variabilidad genética en *Gonypterus maculatus* (Tschudii, 1846) (Pisces, Ophidiiformes). *Revista de Biología Marina*. Valparaíso Vol. 28 (2): 301-312.
- ARRATIA G. & G. ROJAS, A. CHANG. 1981. Géneros de peces de aguas continentales de Chile. Museo Nacional de Historia Natural (Chile). Publicación ocasional 34: 3-108.
- BATTAGLIA, B. & P.M. BISOL. 1988. Environmental factors, genetics differentiation and adaptative strategies in Marine animals. *In: Towards a theory on Biological-Physical interactions in the World Ocean* Rothschild, Ed. Kluwer Academic Publishers: 393-410.
- BILLARD, R. 1991. L'exploitation des ressources vivantes aquatiques, Ed. Direction Generale de la Recherche et la Technologie, pp. 130.
- BILLARD R. & J. MARCEL. 1986. Aquaculture of Ciprinids L'aquaculture des Cyprinidés. Ed. Institut National de la recherche agronomique.
- BRITO, F. 1992. Estudio de la circulación de la Bahía de San Vicente basado en la evolución de sus campos de densidad y velocidad. Tesis Doctorado en Ciencias Ambientales. Universidad de Concepción. Concepción. Chile.
- BRUCE J., TURNER, 1984. Evolutionary genetics of fishes. Ed. Plenum Press.
- BRULE, T. 1989. Analysis of the enzyme polymorphism in a plaice, *Pleuronectes platessa* L, population from the North-West coast of Brittany, France. *J. Fish Biology* 35 (5) 607-620.
- CAMPOS, H., 1972. Karyology of three Galaxid fishes: *Galaxias maculatus*, *platei* and *Brachygalaxias bullocki*. *Copeia* 1972 (2): 368 - 370.
- CAMPOS, H., 1985. Distribution of fishes in the Andean Rivers in the South of Chile. *Arch. Hydrobiol.* 104 (2): 169 - 191.
- CARRASCO J. & M. GALLARDO. 1992. Variación genética en *Concholepas concholepas* en un gradiente latitudinal en el Sur de Chile. XXV Reunión Anual Sociedad de Genética de Chile 20-29 agosto. La Serena.
- CHORROUT, D. & HAPPE. 1986. Improved methods of direct chromosome preparation in rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Aquaculture* 52: 255-261.
- DIAZ, O. 1992. *Tagelus dombeyi* como organismo indicador de la calidad del agua marina en la zona costera de la Bahía San Vicente (VIII Región Chile) y del riesgo de contaminación por mercurio y metil mercurio de origen antrópico. Tesis Doctorado en Ciencias Ambientales. Universidad de Concepción, Concepción Chile.
- FAO/UNEP. 1981. Conservation of genetic resources of fish Problems and recommendations. FAO Fish Tech. Pap 217, pp. 43.
- FARANDA F., O. PARRA, A. OLIVIERO & A CUTRONA. 1993. EULA Síntesis del Programa Historia, actividades desarrolladas, resultados logrados y perspectivas de vitalidad. Ed. A. Pinto 92. pp.
- FARANDA F. & O. PARRA. 1993. Evaluación de la cali-

- dad del agua y ecología del sistema limnético y fluvial del río Biobío. Serie Monografías científicas Vol 12. Ed. A. Pinto, 409 pp.
- GILPIN M.E. & M.E. SOULÉ. 1986. Minimum viable populations: Processes of species extinction. In Conservation Biology by M.E. Soulé. Ed. Sinauer Assoc. Inc. Pub.
- GUYOMARD, R. 1989. Principaux concepts et méthodes relatifs a la description de la diversité génétique d'une espèce Bull. Fr. Peche Piscic 314: 98-108.
- HARRIS, H. & D.A. HOPKINSON. 1977. Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics. North Holland Publishing Co. N.Y. 512 pp.
- HOOFMAN, R.N. & W.K. RAAT. 1982. Induction of nuclear abnormalities (micronuclei) in the peripheral blood erythrocytes of eastern mudminnow *Umbra pygmaea* by ethyl methanesulphonate. Mutation Research 22: 147-152.
- KIRPICHNIKOV, V.S. 1981. Genetic bases of fish selection. Ed. Springer Verlag. pp: 410.
- KOEHN, R.K.; B.L. BAYNE; M.N. MOORE & J. SIEBENALLER. 1980. Salinity related physiological and genetic differences between populations of *Mytilus edulis*. Biol. J. Linnean Soc. 14: 319-334.
- LUCOTTE, GERARD. 1983. Génétique des populations Ed. Inter Editions. pp: 200
- MEFFE, G.K. 1986. Conservation genetics and the management of endangered species. Fisheries 11: 14-23.
- NELSON, K. & M. F. ROULE. 1987. Genetical conservation of exploited fishes in Ryman N, Utter F (eds) Population genetics and fishery management. Washington Sea grant Program. University of Washington Seattle 345-368.
- NEVO E.; B. LAVIE. & R. BEN SHLOMO. 1983. Selection of allelic isozymes polymorphism in marine organisms: Patterns, theory and applications Isozymes 10, 69-92.
- OYARZUN, C.; L. ALID; R. GALLEGUILLOS & L. TRONCOSO. 1991. Polimorfismo y relaciones de parentesco en los congrios del genero *Genypterus* capturados en la zona de Talcahuano (Pisces, Ophidiformes). XI Jornadas de Ciencias del Mar. Valparaíso (Chile) 27-29 de mayo, p.56.
- PARRA, O. 1992. Descripción de la contaminación de tramos en el Biobío: localización de los agentes y de los grados de contaminación y uso del territorio adyacente a los tramos contaminados. Seminario Internacional Planificación Territorial. Ed. EULA-Chile pp.: 18-39.
- PASTEUR N.; G. PASTEUR; F. BONHOMME; J. CATALAN & J. BRITTON DAVIDIAN. 1988. Practical isozyme genetics. Ed. Ellis Horwood Ltd. pp: 217.
- RACINE R. & B. MATTER. 1984. in Ashby *et al.*, Mut. Res. 164: 217-235.
- RASMUSON, M. 1981. Some aspects of available resources of genetic variation. Ryman N (ed) 1981. Fish Gene Pools. Ecol. Bull (Stockholm) 34. 53 - 59.
- RYMAN, N. & F. OTTER. 1981. Population Genetics and Fishery management. Washington sea Grant Program. Distributed by University of Washington Press.
- SCHMID, W. 1975. The micronucleus test. Mut. Res. 31:9-15.
- STOCKS SYMPOSIUM. 1981. Stock concept International Symposium. Can. J. Fish Aquat Sci 38: 1457-1921.
- STUARDO, J. 1961. Contribución a un catálogo de Moluscos Gasterópodos chilenos de agua dulce. Gayana N° 1.
- SWOFFORD, D.L. & R.B. SELANDER. 1989. Biosys-1. A computer Program for the analysis of allelic variation in population genetics and Biochemical systematics. Ed. D.L. Swoford. Illinois History Survey, 43 pp.
- THORPE, J.E.; J.F. KOONCE; D. BORGESON; B. HENDERSON; A. LAMSA; P.S. MAITLAND; R.C. ROSS SIMON & C. WALTERS. 1981. Assessing and managing man's impact on fish genetic resources for aquaculture. ICLARM Conf. Proc. 16: 1-11.
- VALDOVINOS, C.R. 1987. Afinidades morfológicas y adaptativas entre la Familia Chiliniidae y los Opisthobranquios primitivos (Mollusca: Gastropoda). Seminario Bibliográfico. Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales. Depto. Zoología, Universidad de Concepción, 57 pp.
- WEINERT, O. 1988. El río Biobío. Información disponible y requerimientos sobre calidad del agua. pp: 61-70. En origen uso y perspectivas del río Biobío. Tomo I. Editorial Universidad de Concepción, pp: 85.
- WOHLFARTH G.W. 1986. Decline in natural fisheries a genetic analysis and suggestion for recovery Can. J. Fish. Aquat. Sci., 43. 1298-1306.

TABLA N° I. Media del tamaño y peso de los ejemplares analizados de *Concholepas concholepas* de las diferentes localidades.

Localidad	N° Individuos	Talla	Peso	Total
Quintay	51	X: 7.95	X:	115.0
		s: 0.61	s:	31.4
Ramuntcho	51	X: 9.53	X:	213.3
		s: 0.93	s:	57.2
Mehuín	51	X: 7.18	X:	96.22
		s: 1.09	s:	62.90
	153	X: 8.22	X:	141.50
		s: 1.19	s:	62.87

TABLA N° II. Sistemas enzimáticos muestreados en *Concholepas concholepas*.

Enzimas	Código E.C.	Estructura	Tejido	N° Loci M*	N° Loci P	N° Alelos
PGM	2.7.5.1	Monomérica	Músculo	1	1	2
MDH	1.1.1.37	Dimérica	Branquia	3	-	-
GPGDH	1.1.1.44	Dimérica	Músculo	1	-	-
ES	3.1.1.1	Monomérica	Branquia	4	1	3
ICDH	1.1.1.42	Dimérica	Branquia	2	-	-
LAP	3.4.11.1	Monomérica	Músculo	-	1	2

(*) M= loci monomórficos
P=loci polimórficos

TABLA N° III. Frecuencia de alelos polimórficos en las poblaciones muestreadas (*Concholepas concholepas*).

Enzimas	LOCALIDAD								
	Quintay			Ramuntcho			Mehuín		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
PGM	0.617	0.382	---	0.372	0.627	---	0.63	0.37	---
LAP	0.637	0.362	---	0.72	0.28	---	0.64	0.36	---
ES	0.24	0.64	0.106	0.30	0.64	0.06	0.31	0.57	0.120

TABLA N° IV. Heterocigosidad Promedio *Concholepas concholepas*

Localidad	Locus	NUMERO DE INDIVIDUOS		
		Heterocigotos	Total	Heterocigosidad
Quintay	LAP	20	51	20/51:0.39
	PGM	30	51	30/51:0.58
	ES	26	51	26/51:0.55
				H:0.108
Ramuntcho	LAP	17	51	17/51:0.33
	PGM	38	51	38/51:0.74
	ES	31	48	31/40:0.64
				H:0.114
Mehuín	LAP	19	51	19/51:0.35
	PGM	20	51	20/51:0.39
	ES	32	43	32/43:0.74
				H:0.105

TABLA N° V. Distribución de Tamaños y pesos de 2 poblaciones de *Tagelus dombeyi*.

Población	Long. prom.	± d.s.	Peso prom.	± d.s.
Pto. Montt	5.27	1.25	19.51	5.34
San Vicente	8.85	0.78	41.29	9.93

TABLA N° VI. Frecuencias alélicas y heterocigosidad (H) de las poblaciones de Puerto Montt (PM) y San Vicente (S.V.) *Tagelus dombeyii*

Alelo	Locus y tamaño de la muestra							
	PGM		IDH-1		LAP-2		GOT-1	
	PM	SV	PM	SV	PM	SV	PM	SV
	30	35	32	29	31	35	27	31
A	0.150	0.171	0.656	0.603	0.468	0.443	0.463	0.452
B	0.400	0.243	0.344	0.397	0.355	0.371	0.278	0.161
C	0.383	0.486			0.177	0.186	0.289	0.387
D	0.633	0.100						
H	0.633	0.771	0.250	0.241	0.355	0.429	0.556	0.452

TABLA N° VII. Análisis de contingencia (X^2) para todos los loci en las 2 poblaciones de *T. dombeyii* (San Vicente y Puerto Montt).

Locus	No. of alleles	Chi-square	D.F.	P
PGM-1	4	3.818	3	.28179
IDH-1	2	.364	1	.54608
LAP-2	3	.082	2	.95977
GOT-1	3	3.265	2	.19542
(Totales)		7.530	8	.48070

TABLA N° VIII. Sistemas enzimáticos muestreados en *Genypterus maculatus*

ENZIMA	N° LOCI	N° ALELOS	N° SUBUNID.	TEJIDO
Esterasas E.C.3.1.1	Est-1	1	Monómero	Hígado
	Est-2	2		
	Est-3	3		
	Est-4	i		
Enzima Málica E.C.1.1.140	Me-1	2	Tetrámero	Músculo Blanco
	Me-2	1		
Fosfogluco- Isomerasa E.C.5.3.1.9	Pgi-1	1	Dímero	Hígado
	Pgi-2	2		
Fosfogluco- Mutasa E.C.2.7.5.1	Pgm-1	2	Monómero	Músculo Blanco
Fosfogluco- nato-S Deshidrogenasa E.C.1.1.1.49	Pgdh-1	1	Dímero	Hígado
Glicerol-3- Fosfato Des- hidrogenasa E.C.1.2.1.12	Gpdh-1	2	Dímero	Hígado
Isocitrato Deshidrogenasa NADP E.C.1.1.1.42	Idh-1	1	Dímero	Hígado
	Idh-2	1		
Sorbitol Deshidrogenasa E.C.1.1.1.14	Sdh-1	2	Tetrámero	Hígado
	Sdh-2	1		
Malato Deshidroge- nasa E.C.1.1.1.37	Mdh-1	1	Dímero	Músculo Blanco y Rojo
	Mdh-2	1		
Lactato Deshidroge- nasa E.C.1.1.1.27	Ldh-1	2	Tetrámero	Músculo Blanco y Rojo

TABLA N° IX. Frecuencias alélicas de 4 loci polimórficos en los distintos muestreos realizados a lo largo del período de estudio *Genypterus maculatus*.

Locus	Alelos	No Surgencia		Surgencia			
		Ago 89	Abr 90	Oct 89	Nov 89	Ene 90	Nov 90
Em-1	a	0.583	0.630	0.800	0.682	0.214	0.522
	b	0.417	0.370	0.200	0.318	0.786	0.478
Pgm-1	a	0.708	0.500	0.467	0.682	0.429	0.587
	b	0.292	0.500	0.533	0.318	0.571	0.413
Gpdh-1	a	0.667	0.500	0.719	0.550	0.643	0.609
	b	0.333	0.500	0.281	0.450	0.357	0.391
Ldh-1	a	0.917	0.963	1.000	1.000	1.000	1.000
	b	0.083	0.037	0.000	0.000	0.000	0.000

TABLA N° X. Heterocigosidad media observada y esperada de acuerdo a Hardy-Weinberg en los distintos muestreos. *Genypterus maculatus*

EPOCA	HETEROCIGOSIDAD	
	CONTEO DIRECTO	PROMEDIO HARDY-WEINBERG
NO SURGENCIA	Ago 89	0.109
	e.s.	± 0.058
	Abr 90	0.137
	e.s.	± 0.073
SURGENCIA	Oct 89	0.092
	e.s.	± 0.051
	Nov 89	0.122
	e.s.	± 0.065
	Ene 90	0.088
	e.s.	± 0.043
	Nov 90	0.043
e.s.	± 0.026	
PROMEDIO	0.099	0.103
(*) e.s.	± 0.033	± 0.022

(*)e.s.: error estándar.

TABLA N° XI. Presencia de contaminantes químicos en muestras de agua en la sección media del río Biobío (Nacimiento 1991). Datos Centro EULA Chile.

Zona A. Antes de la descarga de desechos Industriales
 Zona B. Después de la descarga de desechos Industriales

ZONA		Contaminantes (ppb)				
		Cd	Cu	Hg	Pb	Pentaclorofenol
A	Maximum	0.4	1.93	0.35	2.95	1.52
	Minimum	0.25	1.23	0.01	0.17	0.009
B	Maximum	3.19	9.93	0.40	4.39	5.38
	Minimum	<0.02	0.14	0.01	1.50	0.02

TABLA N° XII. Análisis de contingencia (X^2) para 2 poblaciones (Desembocadura y Santa Bárbara) de *Chilina dombeyana*. Locus LAP2.

Población		Alelo					
		A	B	C	D	E	F
BOCA	Obs (O)	80.000	.000	2.000	2.000	.000	.000
	ESp (E)	41.012	1.482	6.918	31.624	.494	2.471
	(O-E)**2/E	37.065	1.482	3.496	27.750	.494	2.471
STA.BARBARA	Obs (O)	3.000	3.000	12.000	62.000	1.000	5.000
	ESp (E)	41.988	1.518	7.082	32.376	.506	2.529
	(O-E)**2/E	36.203	1.448	3.415	27.105	.483	2.413

Chi-cuadrado= 143.823

G.L. = 5

P = .00000

Tabla N° XIII. Incidencia de eritrocitos con micronucleo (‰) y número de peces capturados en las tres zonas propuestas para el río Biobío.

ZONA	Frecuencia Media de Eritrocitos Micronucleados (‰) (número de peces)					
	<i>O. mykiss</i>	<i>S.trutta fario</i>	<i>B.australis</i>	<i>P.trucha</i>	<i>P.melanops</i>	<i>C.mauleanum</i>
ALTA	0.25 ± 0.35 (24)	0.44 ± 0.78 (18)	0.33 ± 0.34 (7)	0.80 (3)	-	-
MEDIA	0.32 ± 0.51 (10)	1.25 ± 0.75* (4)	1.58 ± 1.35* (21)	2.42 ± 2.73* (19)	2.76 ± 2.86 (13)	1.29 ± 1.68 (5)
BAJA	-	-	5.48 ± 3.79* (7)	5.88 ± 2.95* (3)	-	-

Zona Alta: Lagos Galletué, Icalma y Laja, Sectores de Callaqui; Zona Media: Nacimiento; Zona Baja: Santa Juana.

Existe diferencia significativa, Test t-Student: *P 8.85, *P 8.81

TABLA N° XIV

Metales Pesados analizados en sedimentos (peso seco).

Lugar : Río Biobío. Estación Nacimiento

Fecha : (N) Noviembre 1989

(A) Abril 1990

(AG) Agosto 1990

(N) Noviembre 1990

CONTAMINANTES		ESTAC. 1	ESTAC. 2	ESTAC. 3	ESTAC. 4	ESTAC. 5	ESTAC. 6	ESTAC. 7	ESTAC. 8	ESTAC. 9	ESTAC. 10	ESTAC. 11	ESTAC. 12
MERCURIO (ppm)	N	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	A	---	ND	---	---	---	---	---	---	ND	---	0,000	ND
	AG	0,08	0,400	---	---	---	---	0,000	---	0,000	---	0,000	0,000
	N	0,07	---	0,18	0,16	0,01	ND	---	0,08	0,23	ND	0,07	---
CROMO (ppm)	N	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	A	---	20,20	---	---	---	---	---	---	20,50	---	17,40	10,00
	AG	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	N	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
COBRE (ppm)	N	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	A	---	23,40	---	---	---	---	---	---	22,60	---	15,00	19,00
	AG	46,40	32,20	---	---	---	---	37,00	---	34,50	---	15,40	29,30
	N	40,53	---	23,74	31,67	20,74	27,44	---	15,90	23,31	10,15	7,60	---
CADMIO (ppm)	N	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	AG	1,00	1,00	---	---	---	---	1,00	---	1,00	---	1,00	1,00
	N	ND	---	0,44	0,210	0,260	ND	---	ND	0,24	ND	0,290	---
PLOMO (ppm)	N	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	AG	6,00	6,00	---	---	---	---	6,00	---	6,00	---	6,00	6,00
	N	1,91	---	1,10	2,00	2,53	1,36	---	0,40	ND	2,35	1,21	---

ND : No detectado

---: Muestras no disponibles

Datos suministrados por Centro EULA-Chile

TABLA N° XV. Metales Pesados Analizados en Muestras Biológicas (Peso Seco).

Lugar: :Río Biobío. Estación (Nacimiento)

Fecha: :(N) Noviembre 1989

(A) Abril 1990

(AG) Agosto 1990

(N) Noviembre 1990

METALES PESADOS		P.TRUCHA (ADULTO)	P.TRUCHA (JUVENIL)	S.GAIRDNERI (JUVENIL)	B. AUSTRALIS (ADULTO)			P.MELANOPS (ADULTO)	S.TRUTTA FARIO (ADULTO)		AEGLA SP. (ADULTO)	Perifiton	
		Brq.Higado	Higado	Higado Brq.	Brq.	Higado	Estómago	Higado	Higado	Estómago			
MERCURIO (ppm)	N	---	0,099	---	0,092	---	---	---	---	---	---	0,06	
	A	---	ND	ND	ND	ND	ND	ND	---	ND	ND	---	
	AG	---	0,20	---	---	0,20	---	---	---	0,20	---	---	
	N	ND	---	---	---	ND	1,15	---	---	---	---	1,66	
CROMO (ppm)	N	---	0,60	---	0,60	---	---	---	---	---	---	4,50	
	A	---	ND	ND	ND	ND	ND	ND	---	ND	ND	---	
	AG	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
	N	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
COBRE (ppm)	N	---	3,93	---	3,20	---	---	---	---	---	---	4,00	
	A	---	0,000	0,004	0,000	0,027	---	0,025	0,011	0,056	---	0,003	0,110
	AG	---	3,60	---	---	---	10,90	---	---	24,70	---	---	---
	N	16,20	3,60	---	---	---	39,12	10,67	---	---	---	---	33,79
CADMIO (ppm)	N	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
	A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
	AG	---	0,340	---	---	---	0,95	---	---	1,00	---	0,900	---
PLOMO (ppm)	N	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
	A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
	AG	---	4,00	---	---	---	15,00	---	---	15,00	---	15,00	---
	N	ND	ND	---	---	---	ND	---	---	---	---	ND	

ND : No detectado

---: Muestras no disponibles

Datos suministrados por Centro EULA-Chile

TABLA XVI. Peso, longitud, sexo y número diploide modal en *C. galusdae*

Pez	Peso (g)	Longitud Total (mm)	Sexo	Número Diploide					Total	
				47	48	49	50	51		52+
1	0.6	34.0	M				1	1		2
2	1.0	36.2	M				3		1	4
3	0.7	38.0	M			1	1	1		3
4	0.7	39.5	H		1		6		3	10
5	2.0	46.1	H				1		2	3
6	1.0	39.2	H	1		1	3			5
7	0.4	33.0	H				5	2	2	9
8	0.4	32.2	M				3		1	4
Total:				1	1	1	23	4	10	40
% :				2.5	2.5	7.5	57.5	10.0	24.0	100.0

TABLA N° XVII. Peso, Longitud, Sexo y Número Diploide modal en *P. trucha*.

Pez	Peso (g)	Longitud Total (mm)	Sexo	Número Diploide				Total
				41	42	43	44	
1	88.2	173.0	H		1		1	2
2	76.2	165.0	H	1			6	7
3	87.2	167.0	H			1	1	2
4	70.4	157.0	M		1		4	5
Total:				1	2	1	12	16
% :				6.3	12.5	6.3	75.0	100.0

ANEXO

Tampones

Utilizados en *Genypterus maculatus*; *Concholepas concholepas* y *Tagelus dombeyii*.

a) Continuos

TC pH7: Tris (0.13 M), Ac. Cítrico (0.043 M) electrodo. Diluir 1:25 para el gel.

TBV pH8: Tris (0.5 M). Ac.Borico (0.65 M) EDTA (0.016 M) Para electrodo. Diluir 1:10 para el gel

Tris Cl pH 8.6: Tris (0.3 M) para el electrodo. Diluir 1:15 para el gel.

b) Discontinuos

TC pH 6.3-6.7: Tris base (0.223 M), Ac. Cítrico (0.086) pH6.3 para electrdo y Tris base (0.008 M)
Ac. Cítrico (0.003 M) pH 6.7 para el gel.

Utilizados en *Chilina dombeyana* sp.

Tampon de extracción

Tris HCl 0.05 M pH 8
Polivinil pirrolidona 400 mg/100 ml
Azul de bromofenol 5 mg/100 ml

Tampon de corrida

A. Electrodo : Tris 13.36 gr/l
Ac.Cítrico 9.50 grs/l pH 8.5
Gel : Tampon electrodo diluído 1:15

B. Electrodo : Tris 20 gr/l
Ac. Borico 10 gr/l pH 8.5
Gel : Tampon electrodo 1:1

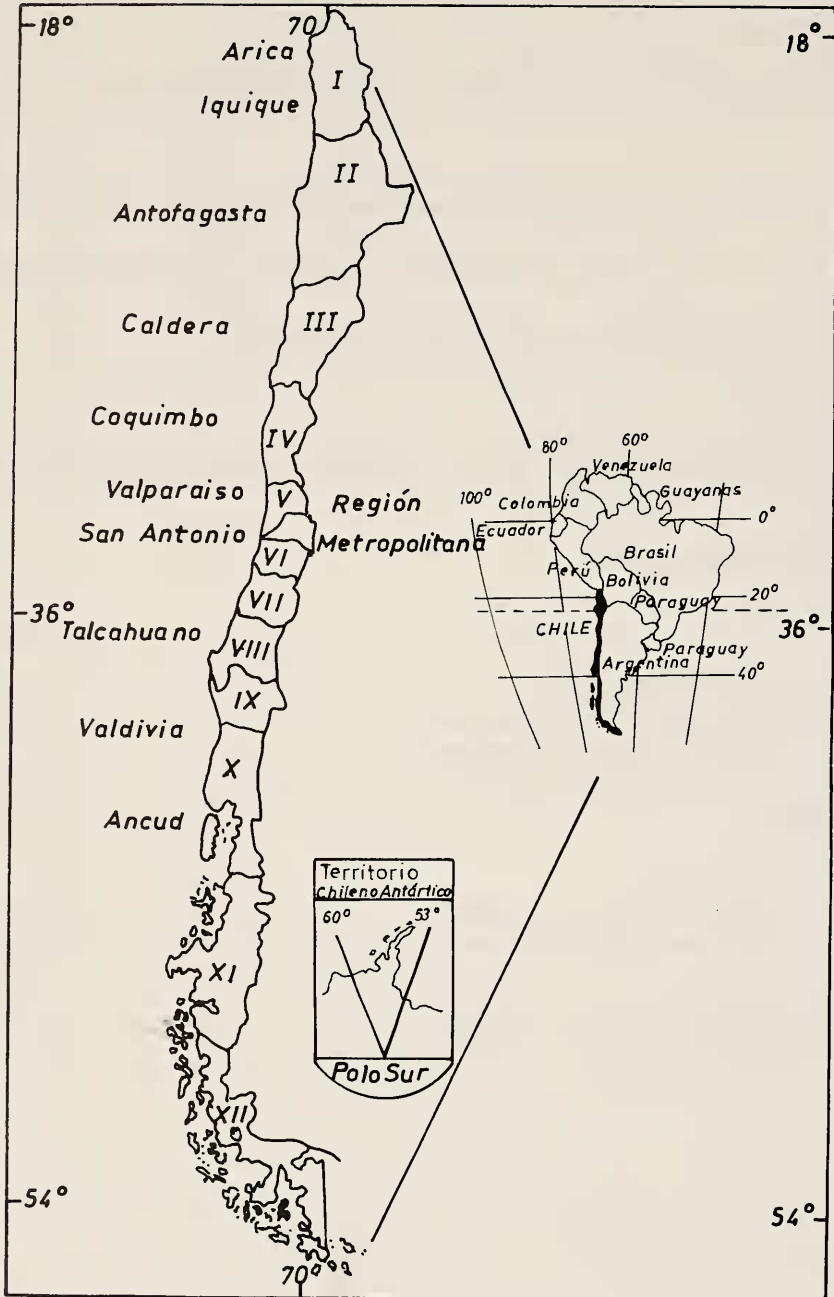


FIGURA Nº 1. Lugares de muestreo de las diversas especies monitoreadas:

V = *Concholepas concholepas*

VIII= *Concholepas concholepas*, *Genypterus maculatus*, *Chilina dombeyana*, *Tagelus dombeyii*, *Oncorhynchus mykiss*, *Salmo trutta*, *Basilichthys australis*, *Percichthys trucha*, *Percichthys melanops*, *Cauquemauleanum*, *Cheirodon galusdae*.

X = *Concholepas concholepas*, *Tagelus dombeyii*.

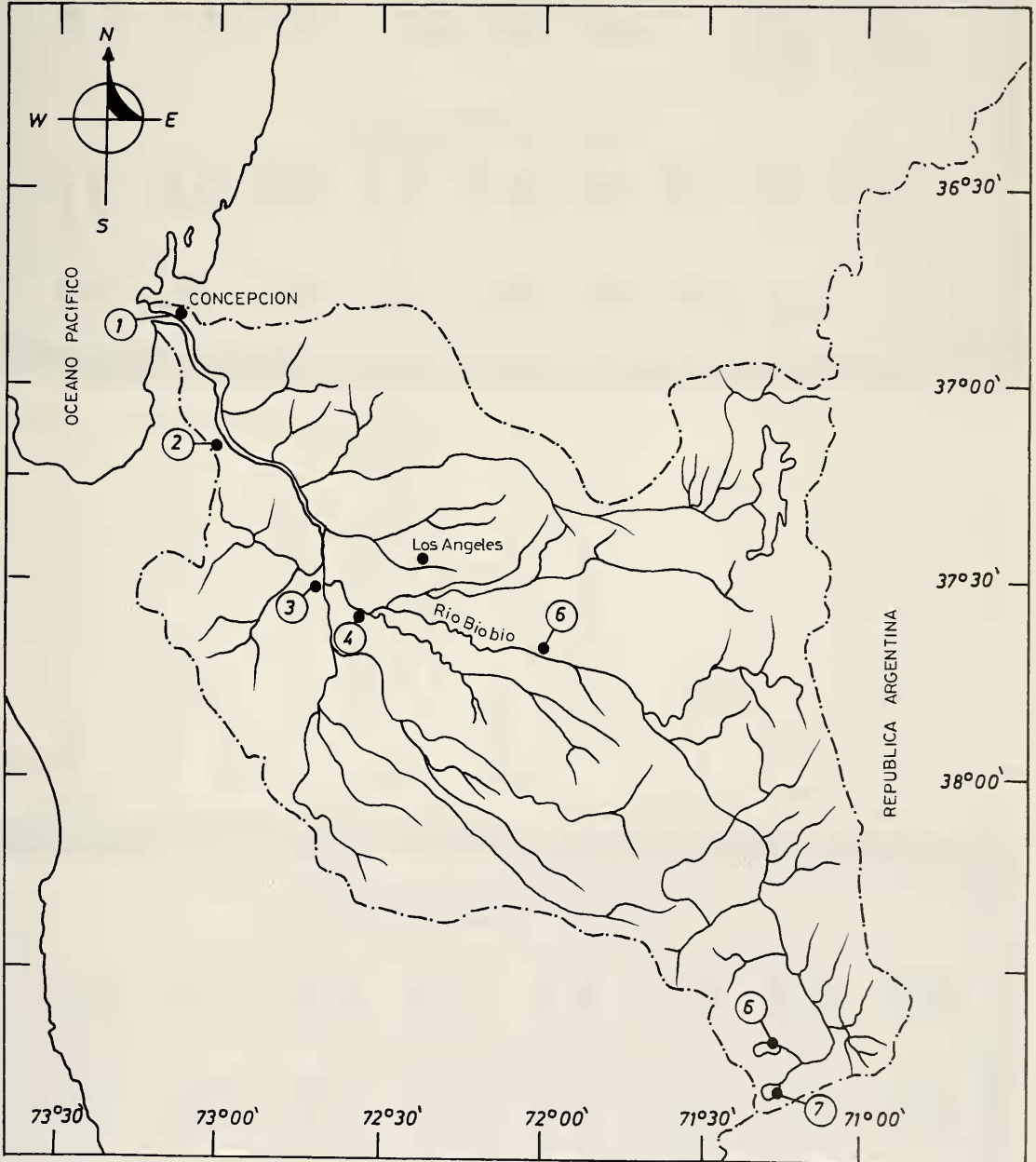


FIGURA Nº 2. Lugares de muestreo en el río Biobío. Ver texto: 1 Desembocadura; 2 Santa Juana; 3 Nacimiento; 4 Negrete; 5 Puente Callaqui (Santa Barbara); 6 Laguna Galletué; 7 Laguna Icalma.

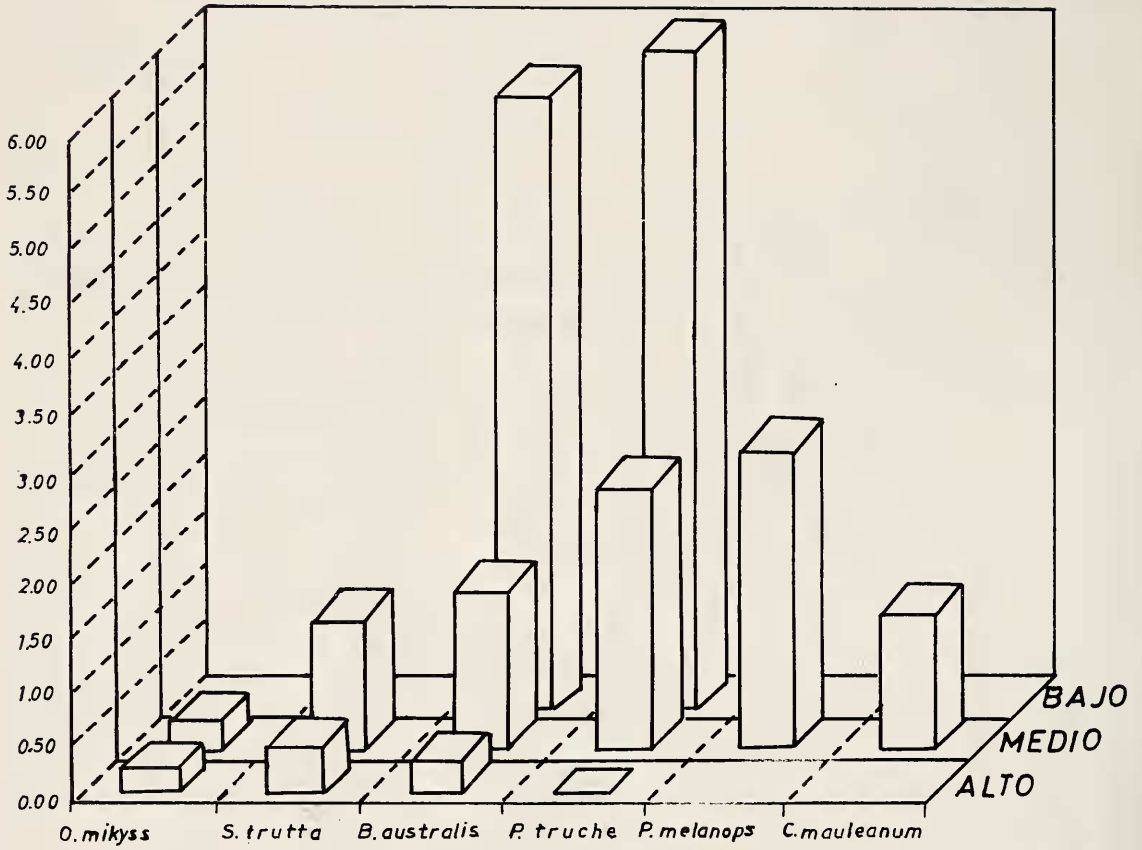


FIGURA N° 3. Frecuencia de MN presentes en los eritrocitos de peces muestreados en 3 sectores (Alto, Bajo, Medio) del río Biobío.

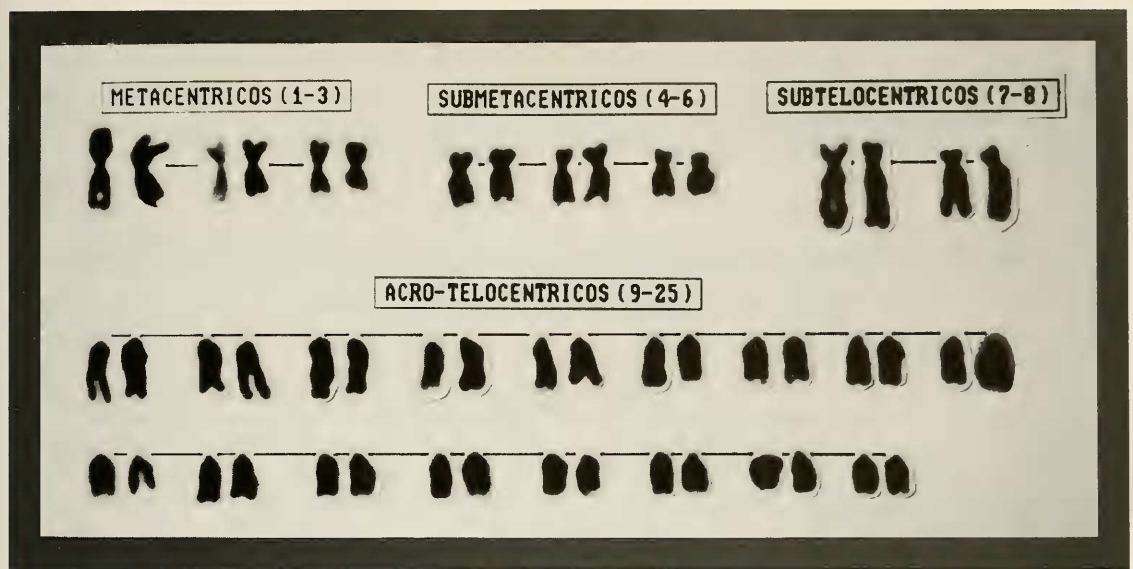


FIGURA N° 4. Cariotipo de *Cheirodon galusdae*

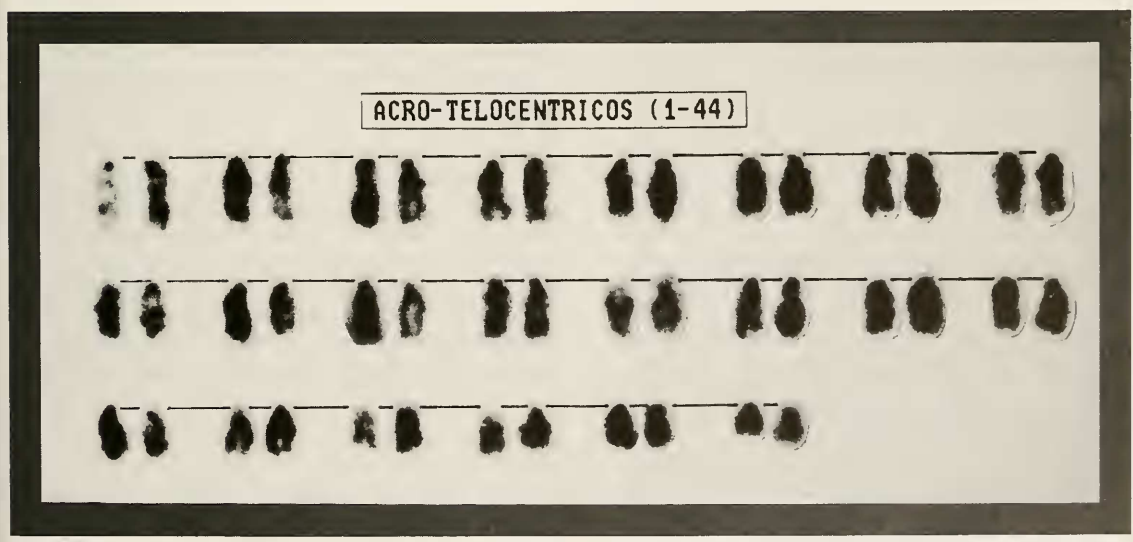


FIGURA N° 5. Cariotipo de *Percichthys trucha*